

## Efecto bociógeno de la leche. I. Estudio del balance del yodo en ratas alimentadas con leche \*

M. Muñoz-Rodríguez

Departamento de Medicina Interna. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona (España)

(Recibido el 24 de octubre de 1969)

M. MUÑOZ-RODRIGUEZ. *Goiter-inducing Effect of Milk. I. Study of Iodine Balance in Rats Fed with Milk.* R. esp. Fisiol., 26, 189-196, 1970.

Iodine balance was studied for one year in two groups of Weistar rats. The experimental group (group A) was fed on milk from a goitrous area, whereas the control group (group B) was fed on regular farm milk.

Throughout the experiment the amount of iodine ingested was higher for group A, this was due to the higher iodine content of the milk of goitrous origin. Comparisons of the tangents of the two regression lines led, however, to a non-significant difference ( $P = 0.27$ ).

Iodine elimination in faeces was significantly higher for the control group, which is probably due to the deficient iodine ingesta of this group.

It is concluded that the milk of goitrous origin under study did not affect iodine balance.

El posible efecto bociógeno de la leche ha sido sugerido por CLEMENTS (4) para explicar el bocio endémico en escolares. GREEN *et al.* (5) consiguieron demostrar que la captación de yodo por el tiroides de humanos, tomando leche de procedencia bociosa, estaba disminuida. PELTOLA también ha sostenido la hipótesis de la participación de la leche en la génesis del bocio endémico en su país e incluso ha llegado a provocar bocio en ratas alimentadas con leche (8, 15).

En trabajos anteriores (10, 11) se había sostenido la hipótesis de que tal efecto bociógeno de la leche podría explicar, en parte, el bocio endémico en una zona del norte de Navarra.

En el presente trabajo se inician una serie de estudios experimentales con objeto de conocer posibles efectos de la leche procedente de la zona bociosa estudiada, sobre varios aspectos del fisiologismo de la glándula tiroides.

### Material y métodos

Durante un año se han matenido dos lotes de ratas hembras Wistar tomando

\* Este trabajo se ha llevado a cabo con ayuda de una beca de «Iniciación a la investigación» del Patronato de Igualdad de Oportunidades de la Comisaría de Protección Escolar.

leche y dieta base pobre en iodo. A un grupo de ratas (lote A) se administró leche de origen bocioso y otro (lote B) leche procedente de una granja del sur de Navarra. La dieta base común para ambos lotes estaba constituida por: harina integral de trigo, levadura de cerveza (9:1), cloruro sódico y carbonato de calcio Merck (50 g aa), cuyo contenido en iodo ha variado entre 0,01 a 0,02  $\gamma$ /100 mg.

Cada mes se separaron en jaulas metabólicas seis ratas de cada lote. Antes de comenzar el estudio del balance del iodo, las ratas se mantuvieron durante un mes en las jaulas, con objeto de conseguir el acostumbramiento del animal. Durante cuatro semanas se estudió el balance del iodo, midiendo diariamente la ingestión de leche y la excreción de orina y pesando el consumo de dieta base y el volumen de heces. Tanto en la ingesta como en la excreta se determinó semanalmente el contenido de iodo según método de BENOTTI y BENOTTI (1) y los resultados se expresaron en balance diario.

Las restantes ratas se mantuvieron en jaulas corrientes, tres animales por jaula, alimentándolas con leche diferente según el lote y dieta base.

Cumplidas las cuatro semanas las ratas de ambos lotes mantenidas en las jaulas metabólicas se sacrificaron 24 horas después de inyectarles 4-6  $\mu$ c  $I^{131}$  intraperitonealmente, llevándose a cabo los siguientes estudios: peso tiroideo, captación tiroidea de  $I^{131}$ , eliminación urinaria y fecal de  $I^{131}$ , PBI $^{131}$ , contenido de tiocianato en sueros y cromatografía de hidrolizados tiroideos, cuyos resultados se referirán en próximas publicaciones.

Al colocar un nuevo grupo de ratas en las jaulas metabólicas se esperó un mínimo de dos semanas hasta empezar de nuevo el estudio del balance, para conseguir el debido acostumbramiento del animal a la jaula.

La experiencia se inició en marzo de 1967 y concluyó en marzo de 1968. El total de ratas de ambos lotes a las cuales

se analizó el balance del iodo fue de 96, de ellas murieron durante la experiencia 3, todas ellas del lote A.

Los ocho períodos que completaron el año de experimentación comprendieron los siguientes intervalos: 1.º, del 6 de abril al 12 de mayo de 1967; 2.º, del 13 de mayo al 19 de junio de 1967; 3.º, del 23 de junio al 31 de julio de 1967; 4.º, del 5 de agosto al 12 de septiembre de 1967; 5.º, del 25 de septiembre al 23 de octubre de 1967; 6.º del 26 de octubre al 5 de diciembre de 1967; 7.º, del 11 de diciembre de 1967 al 15 de enero de 1968, y 8.º, del 21 de enero al 4 de marzo de 1968.

## Resultados

a) VOLUMEN DE LA INGESTA (leche y dieta base) y EXCRETA (orina y heces). Ambos lotes de ratas mantenidos en jaulas metabólicas tomaron durante los cinco primeros períodos de experiencia 30 ml de leche diarios y en los períodos VI, VII y VIII ingirieron 40 ml. La cantidad de dieta base consumida varió muy poco a lo largo de toda la experiencia, en el lote A entre  $10,2 \pm 2,6$  y  $7,4 \pm 2,7$  g por día y en el lote B entre  $12 \pm 1,78$  y  $7,7 \pm 2,9$  g por día, no siendo significativas las diferencias cuando se comparan por períodos de experiencia (tabla I).

La diuresis fue también similar para ambos lotes en cada período separado. Durante los cinco primeros períodos, en los que las ratas tomaron 30 ml de leche diarios, la diuresis para el lote A fue de  $16,7 \pm 5,7$  a  $11,4 \pm 2,3$  y en el lote B varió entre  $17,4 \pm 5,8$  y  $12,9 \pm 4$ . En los períodos VI, VII y VIII la ingesta de leche fue de 40 ml diarios por rata y durante ellos aumentó la diuresis paralelamente en ambos lotes.

El volumen de heces excretado diariamente no presentó variaciones en ambos lotes, lo que va de acuerdo con la semejante ingesta de dieta base en ambos grupos de ratas.

Tabla 1. *Diuresis y volumen de heces diario correspondiente a cada lote de ratas.*

Lote A, tomando leche de origen bocioso y lote B leche de granja. Las heces se pesaron después de desecadas 24 horas a 37° C. Asimismo se recoge la ingesta de pienso diaria. La cantidad de leche ingerida, igual para ambos lotes, fue de 30 ml diarios hasta el período V inclusive y de 40 ml durante los períodos VI, VII y VIII.

Período de exper.	Orina (ml/24 h)		Heces (g/24 h)		Dieta base (g/24 h)	
	Lote A	Lote B	Lote A	Lote B	Lote A	Lote B
1	14,4 ± 2,5	13,1 ± 2	2,0 ± 0,7	2,2 ± 0,6	10,2 ± 2,6	12,0 ± 1,78
2	11,4 ± 2,3	12,4 ± 2	1,5 ± 0,3	1,67 ± 0,3	9,6 ± 3	10,0 ± 2,26
3	14,6 ± 2,7	12,9 ± 4	1,47 ± 0,42	1,51 ± 0,46	8,3 ± 2,5	8,4 ± 2,8
4	13,5 ± 2,4	13,7 ± 5,7	1,64 ± 0,49	1,28 ± 0,47	9,3 ± 3,2	9,0 ± 2,6
5	16,7 ± 5,7	17,4 ± 5,8	1,6 ± 0,54	1,39 ± 0,6	8,9 ± 3,14	7,7 ± 2,9
6	25,4 ± 4,3	21,9 ± 4,8	1,9 ± 0,49	1,69 ± 0,49	10,9 ± 3,9	9,8 ± 3,5
7	23,5 ± 3,8	21,5 ± 0,9	1,68 ± 0,33	1,6 ± 0,45	9,4 ± 3,1	9,5 ± 3,6
8	21,7 ± 3,7	21,8 ± 3,2	1,28 ± 0,4	1,53 ± 0,35	7,4 ± 2,7	9,0 ± 2,6

b) CONTENIDO DE IODO EN LA LECHE. El contenido de iodo en la leche de procedencia bociosa y en la leche usada como control, varió ampliamente a lo largo del año. En cualquier momento de la experiencia puede observarse un mayor contenido de iodo en la leche de origen bocioso, lo que se refleja en una mayor ingesta de este elemento por las ratas del lote A (tabla II).

c) INGESTA Y ELIMINACIÓN DE IODO. El mayor aporte de iodo se hace a través de la leche en el lote A en cualquiera de los períodos que se consideren. Puede verse (tabla III) cómo varía ampliamente de acuerdo con el contenido de iodo en la leche. La ingesta de iodo a través de la leche para el lote A varió de 1,78 a 7,58  $\gamma$ /día e incluso en alguna semana del período V se alcanzó un valor de 11  $\gamma$ /día. Por el contrario, el aporte de iodo por la dieta base varió muy poco, de  $1,08 \pm 0,08$  a  $0,73 \pm 0,16$ . La ingesta total de iodo para este lote A osciló entre  $2,67 \pm 0,1$  y  $8,66 \pm 0,73$ . La ingesta media total de la experiencia fue de  $4,1 \pm 2,1$ , esta desviación standard se comprende por la gran variabilidad del contenido de iodo en la leche.

En el lote B (tabla 4) la ingesta media mayor fue de  $3,1 \pm 0,17$  y la menor de  $1,6 \pm 0,07$   $\gamma$ /día. A través de la leche las ratas recibieron la mayor cantidad de iodo, salvo en el primer período de experiencia. El aporte de iodo a través de la dieta base fue muy constante como ocurría con el lote A. La ingesta media total de la experiencia para el lote B fue de  $2,43 \pm 0,85$ .

La eliminación de iodo se hizo preferentemente por la orina; en el lote A fue

Tabla 2. *Variaciones del contenido de iodo en la leche A de origen bocioso y en la leche B procedente de granja.*

Los valores se expresan como promedios y entre paréntesis los valores límites.

Período de experiencia	Iodo ( $\gamma$ /l)	
	Leche A	Leche B
1	33 (30-36)	43 (40-46)
2	58,3 (26-91)	12 (14,5-10)
3	93 (51-133)	41,8 (24-72)
4	170,4 (127-237)	64,8 (9-128)
5	52,6 (38-88)	62 (40-76)
6	161,1 (60-357)	73 (35-175)
7	76,16 (40-110)	30,3 (15-52)
8	83,4 (47-128)	34,4 (22-43)

Tabla III. Balance de Iodo durante seis de los ocho periodos de experiencia en ratas del lote A que tomaban leche de origen *bocloso*. Los resultados se expresan ( $\gamma$ ) como valores medios con sus desviaciones standard. Para la leche sólo se refieren el promedio y los valores límites.

Leche		Ingesta			Excreta			Balance	
$\gamma$	%	Dieta base		Total	Orina		Heces		Total
		$\gamma$	%	$\gamma$	$\gamma$	%	$\gamma$	%	$\gamma$
2,13 (0,79-3,72)	68,93	0,96 ± 0,1	31,06	3,095 ± 0,09	2,58 ± 0,45	83,3	0,82 ± 0,2	26,4	3,4
2,79 (1,53-3,89)	73,00	1,03 ± 0,12	26,00	3,82 ± 0,10	2,86 ± 0,1	74,86	0,5 ± 0,05	13,08	3,36
1,78 (1,14-2,64)	66,00	0,89 ± 0,09	33,00	2,67 ± 0,10	1,69 ± 0,2	63,29	1,04 ± 0,37	38,95	2,73
7,56 (10,7-4,4)	86,60	1,09 ± 0,086	12,40	8,66 ± 0,73	7,36 ± 0,70	84,98	1,32 ± 0,3	15,24	8,68
2,61 (1,53-2,20)	75,00	0,87 ± 0,05	25,00	3,48 ± 0,05	2,67 ± 0,62	76,72	0,798 ± 0,13	22,93	3,468
3,02 (1,8-4,3)	81,60	0,73 ± 0,16	19,70	3,70 ± 0,24	3,01 ± 0,30	81,35	0,78 ± 0,29	21,1	3,791

Tabla IV. Balance de todo durante seis de los ocho periodos de experiencia en ratas del lote B que tomaban leche de granja del sur de Navarra. Este lote B fue usado como control comparativo. Los resultados se expresan ( $\gamma$ ) como valores medios con sus desviaciones standard. Para la leche sólo se refieren el promedio y los valores límites.

Leche		Ingesta				Excreta				Balance	
$\gamma$	%	Dieta base		Total		Orina		Heces		Total	
		$\gamma$	%	$\gamma$	%	$\gamma$	%	$\gamma$	%	$\gamma$	%
0,607 (0,3-1,2)	37,96	0,99 ± 0,07	61,87	1,6 ± 0,07	46,75	0,74 ± 0,14	1,15 ± 0,16	1,89	71,87	-0,29	-18,1
1,27 (0,72-2,2)	53,5	1,06 ± 0,07	44,7	2,37 ± 0,13	25,31	0,6 ± 0,11	1,37 ± 0,17	1,97	57,8	+0,4	+16,9
1,52 (0,6-2,28)	64,9	0,75 ± 0,03	32,8	2,34 ± 0,23	33,3	0,78 ± 0,23	1,29 ± 0,33	2,07	55,1	+0,27	+11,6
2,1 (1,6-3)	67,7	0,98 ± 0,1	31,6	3,1 ± 0,17	31,2	0,97 ± 0,21	2,58 ± 0,52	3,55	83,2	-0,45	-14,5
1,77 (0,64-3,7)	65,0	0,91 ± 0,07	33,3	2,73 ± 0,3	31,07	0,84 ± 0,2	1,58 ± 0,36	2,42	57,8	+0,31	+11,4
1,48 (1,16-1,72)	62,0	0,89 ± 0,062	37,9	2,36 ± 0,07	33,47	0,79 ± 0,11	0,81 ± 0,10	1,6	34,2	+0,76	+32,3

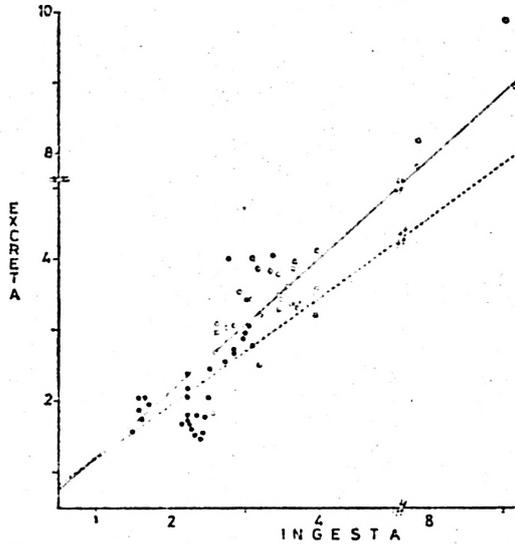


Fig. 1. Balance de iodo en ambos lotes de ratas, expresado en gammas por día. Cada punto representa el balance del iodo de una rata durante cada periodo de experiencia. (—)  $y = 0,778 + 0,8064x$ ; (---)  $y' = 0,835 + 0,587x'$ .  $t_r = 10,5$ ,  $P = 0,000.000.001$ ;  $t_b = 1,27$ ,  $P < 0,27$ . Lote A (○):  $\bar{x} = 4,1 \pm 2,1$ ;  $\bar{y} = 4,085 \pm 2,17$ ;  $r = 0,84$ . Lote B (●):  $\bar{x}' = 2,435 \pm 0,85$ ;  $\bar{y}' = 2,265 \pm 0,95$ ;  $r' = 0,65$ .

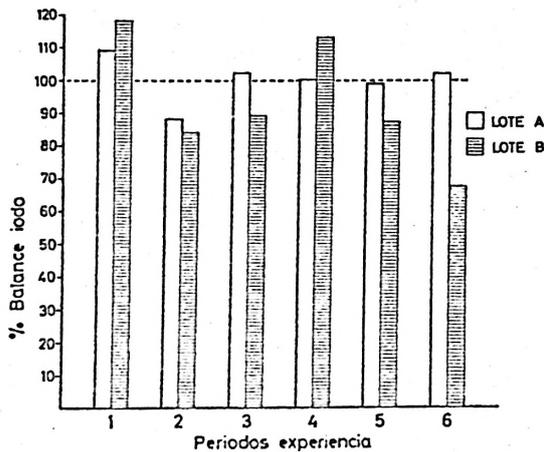


Fig. 2. Balance de iodo en ambos lotes de ratas, expresado en tanto por ciento en cada periodo de experiencia. El 100 % señalado con trazo discontinuo representaría el balance en equilibrio ideal.

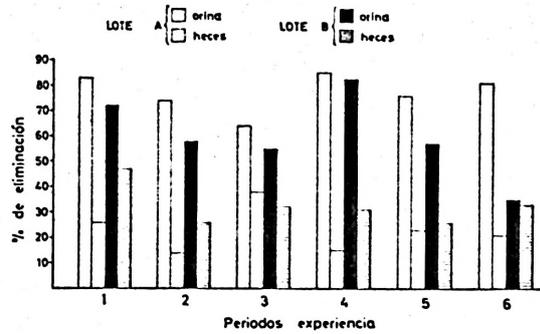


Fig. 3. Eliminación urinaria y fecal porcentual de iodo con respecto a la ingesta en ambos lotes de ratas, en cada periodo de experiencia.

del 77,4 % y en el lote B del 66 % con relación a la ingesta. La eliminación por heces fue más elevada en el lote B (33,5 %) que en el lote A (22,8 %) y el estudio comparativo de la dispersión de ambos promedios es significativo ( $P < 0,001$ ) (figs. 1 y 2).

El análisis estadístico de los datos obtenidos (fig. 3) pone de manifiesto que en el lote A existe una clara tendencia al balance equilibrado, comprobándose un coeficiente de correlación próximo a 1 ( $r = + 0,84$ ), mientras que en el lote B el balance tiende a ser positivo ( $r = + 0,65$ ). El estudio comparativo de ambos coeficientes de correlación es altamente significativo ( $c = 10,5$ ,  $P = 0,000000001$ ), pero el análisis comparativo de ambas pendien-

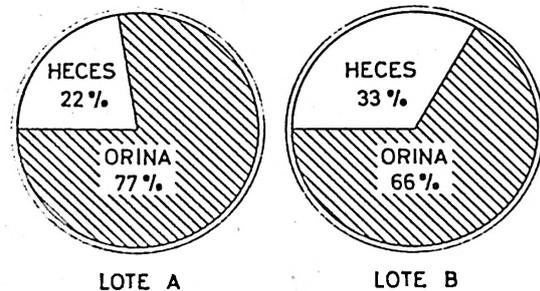


Fig. 4. Total eliminación urinaria y fecal de iodo en ambos lotes de experiencia.

tes no difiere significativamente ( $c = 1,1$ ;  $P = 0,27$ ). La representación gráfica de la eliminación de iodo por heces frente a la ingesta (fig. 4) evidencia una mayor excreción en el lote B.

### Discusión

El estudio del balance de iodo aun cuando implica dificultades técnicas, la principal de las cuales radica en separar perfectamente las heces de la orina, constituye un medio de conocer las posibles modificaciones que sobre el mismo desencadenen diferentes situaciones patológicas inducidas a través de drogas o por la alimentación.

En el hombre las dificultades de llevar a cabo este estudio son insoslayables, por la imposibilidad real de mantener una ingesta más o menos constante de iodo durante un tiempo suficientemente prolongado para conseguir unos resultados concluyentes. No obstante, algunos autores (7, 9) han llevado a cabo estudios en breves períodos de tiempo, si bien las conclusiones que pueden derivarse de estos trabajos son equívocas y no permiten obtener normas de aplicación práctica.

Por ello, consideramos que por el momento, mientras no surjan métodos más simples, el estudio del balance del iodo queda relegado al animal de laboratorio, donde puede controlarse con bastante exactitud la ingesta de iodo.

Estudios previos sobre los factores etiológicos del bocio endémico en Navarra (10-13) nos llevaron a realizar el presente trabajo con el fin de comprobar si la leche de la zona bociosa estudiada — hipotética vehiculizadora de sustancias bociógenas — era capaz de producir alteraciones del balance del iodo, toda vez que en los escolares de la zona endémica se había comprobado una ingesta de iodo de  $190 \pm 50$  gammas diarias y una eliminación urinaria de  $31,4 \pm 15 \gamma/24$  h; lo cual implicaba o bien una pérdida de iodo por las

heces o una retención de iodo por el tiroides. El motivo de emplear la leche ha sido debido de un lado a estudios llevados a cabo por algunos autores (3, 4) demostrando su actividad bociosa o cuando menos antitiroidea y por otro al elevado consumo que de este alimento hacen los habitantes de la zona endémica estudiada.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo permiten concluir que la leche de la zona bociosa estudiada no provoca alteraciones en el balance de iodo, no habiéndose comprobado una eliminación más elevada por las heces, lo que podría explicar el balance fuertemente positivo de iodo encontrado en los escolares de la misma zona endémica. Claro que tal supuesto puede establecerse aceptando que la leche es factor decisivo en el desencadenamiento de la endemia y esta hipótesis aún no se ha confirmado plenamente. En un trabajo posterior (14) ha podido comprobarse un efecto bocioso débil en la primera generación de las ratas que tomaban leche de la zona bociosa y tal efecto se ha relacionado, en parte, con la elevada concentración de tiocianatos al compararla con la leche usada como control.

El hallazgo de una mayor eliminación de iodo por las heces en las ratas controles, creemos que puede ponerse en relación con la menor ingesta de iodo. VAN MIDDLESWORTH (16) ha podido comprobar en ratas en equilibrio isotópico, tomando dietas pobres en iodo, una eliminación fecal de iodo de hasta un 90 %. Es posible que exista una relación entre grado de carencia de iodo y porcentaje de su eliminación por heces. Así, las ratas del lote B de experiencia presente han venido tomando más de una gamma de iodo diaria sin sobrepasar las tres gammas y aunque los requerimientos diarios para la rata se cifran en  $1 \gamma$  (6), creemos que o bien esta cantidad no sea real o que la leche contiene determinadas sustancias que aumentan los requerimientos de iodo. Entre las sustancias antitiroideas de la leche se ha estudiado el tiocianato, y aunque

los resultados se referirán en otro trabajo, se puede adelantar que esta sustancia no influye en el metabolismo del yodo, puesto que precisamente la leche de la zona bociosa contiene mucho más tiocianato ( $\bar{x} = 8,59 \pm 1,9$ ) en cualquiera de los períodos de experiencia que la leche usada como control ( $\bar{x} = 3,78 \pm 0,9$ ).

Aun cuando la experiencia se ha llevado a cabo durante un tiempo suficientemente prolongado como para evitar la posibilidad de resultados de escasa garantía, es indudable que no puede parangonarse lo que sucede en un animal de vida media breve, como la rata, con lo que acontece en el hombre, a lo largo de cuya prolongada vida pueden ir gravitando factores múltiples, la mayoría de las veces imposible de delimitar, pero cuya sumación de efectos puede exigir una mayor actividad de una glándula que como el tiroides regula funciones relacionadas con el desarrollo vital del individuo.

*Agradecimiento.* Queremos agradecer la labor que en este trabajo nos ha prestado la señorita María Sesma, tanto en la recogida de datos como en la realización de determinaciones.

### Resumen

En dos lotes de ratas hembras Wistar se ha estudiado durante un año el balance del yodo. Un lote de ratas tomando leche procedente de una zona bociosa (lote A) y el otro leche de granja, usado como control (lote B).

La ingesta de yodo a lo largo de la experiencia ha sido mayor en el lote A, debido a un mayor contenido de yodo en la leche de origen bocioso.

El balance del yodo ha sido equilibrado en el lote A, mientras en el control se comprueba una tendencia al balance positivo. Sin embargo,

el estudio comparativo de las pendientes de ambas líneas de regresión no ha sido significativo ( $P = 0,27$ ).

La eliminación de yodo por las heces ha sido significativamente mayor en el lote control, lo que puede explicarse por una ingesta deficiente en yodo.

Se concluye que la leche de procedencia bociosa estudiada no modifica el balance del yodo.

### Bibliografía

1. BENOTTI, J. y N. BENOTTI: *Clin. Chem.*, **9**, 408, 1963.
2. BROADHED, G. D., I. B. PEARSON y G. M. WILLSON: *Brit. Med. J.*, **1**, 343, 1965.
3. BROADHED, G. D., I. B. PEARSON y G. M. WILLSON: *J. Endocrin.*, **32**, 353, 1965.
4. CLEMENTS, F. W.: *Brit. Med. Bull.*, **16**, 133, 1960.
5. GREEN, R., H. FANAN y R. F. GLASCOCK: *J. Endocrin.*, **17**, 272, 1958.
6. GRIFFITH, J. Q. y J. E. FARRIS: «The Rat in Laboratory Investigation». Philadelphia, 1952.
7. HARRISON, M. T.: *J. Clin. Endocrin. Metab.*, **25**, 1077, 1965.
8. KRUSIUS, F. E. y P. PELTOLA: *Acta Endocrin.*, **53**, 235, 1958.
9. LONDON, W. T., K. A. KOUTRAS, A. PESSMAN y R. L. VOUGHT: *J. Clin. Endocrin. Metab.*, **25**, 1091, 1965.
10. MUÑOZ R., M.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, **8**, 149, 1964.
11. MUÑOZ R., M.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, **8**, 159, 1964.
12. MUÑOZ R., M.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, **10**, 27, 1966.
13. MUÑOZ R., M.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, **11**, 149, 1967.
14. MUÑOZ R., M.: *R. esp. Fisiol.*, **26**, 197, 1970.
15. PELTOLA, P.: Excerpta Med. IV Conf. International. sobre bocio. Londres, 1960.
16. VAN MIDDLESORTH, L.: *Endocrinol.*, **58**, 235, 1956.